Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

DIE WIRKUNG VON ÄTHANOL AUF DIE SPIEGEL FLÜCHTIGER KOHLENWASSERSTOFFE IN DER MENSCHLICHEN AUSATEMLUFT

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von

SUSANNE KAPPLER

aus Freudenstadt

1981

Aus dem Zentralinstitut für Anaesthesiologie und Transfusionswesen
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. R. Schorer

DIE WIRKUNG VON ÄTHANOL AUF DIE SPIEGEL FLÜCHTIGER KOHLENWASSERSTOFFE IN DER MENSCHLICHEN AUSATEMLUFT

INAUGURAL – DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard - Karls - Universität
Tübingen

vorgelegt von
SUSANNE KAPPLER
aus Freudenstadt

1981

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Dekan: Professor Dr. K. Voigt

1. Berichterstatter: Professor Dr. V. Hempel
2. Berichterstatter: Professor Dr. W. Heller

---

gedruckt bei H.- J. Köhler , Reprografischer Betrieb , Tübingen

Meinen Eltern

in

Dankbarkeit

gewidmet

On ne voit bien qu'avec le coeur.
L'essentiel est invisible pour les yeux.

aus: Antoine de Saint-Exupéry:
'Le Petit Prince'

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINFÜHRUNG	1
2.	METHODIK	7
2.1.	Verwendete Materialien	7
2.2.	Versuchspersonen	8
2.3.	Versuchsablauf	9
3.	PROBENAUFBEREITUNG UND -BESTIMMUNG	12
3.1.	Blutchemische Untersuchungen	12
3.2.	Plasmaäthanolbestimmung	12
3.3.	Atemgasanalyse	12
3.3.1.	Entwicklung	12
3.3.2.	Aufbereitung und Bestimmung der Atemgasproben	16
3.4.	Auswertung	19
4.	ERGEBNISSE	21
4.1.	Befinden der Probanden	21
4.2.	Änderung der blutchemischen Werte	21
4.2.1.	Blutbilder	21
4.2.2.	Transaminasen	22
4.2.3.	Serumbilirubin	23
4.2.4.	Serum-Triglyceride	23
4.3.	Blutalkoholspiegel	24
4.4.	Kohlenwasserstoffgase	26
4.4.1.	Äthan	29
4.4.2.	Propan	32
4.4.3.	Pentan	37
5.	DISKUSSION	42
6.	ZUSAMMENFASSUNG	47
7.	LITERATURVERZEICHNIS	48

DANKSAGUNG

LEBENSLAUF

1. EINFÜHRUNG

Äthanol verursacht bei akuter wie chronischer Verabreichung eine Vielfalt von Stoffwechselveränderungen der Kohlehydrate, Fette und Proteine (BAUER 1977, LIEBER 1974). Direkte toxische Wirkung des Äthanols sowie indirekte Wirkung über Stoffwechselveränderungen führen zu Schädigungen der Leber, dem sogenannten Alkohol-Leber-Syndrom (GROSS und SCHÖLMERICH 1977).

Dieser Begriff umfaßt mehrere Schädigungsformen, ohne näheres über die Pathogenese auszusagen. In der Tat ist nicht geklärt, welche Prozesse primär zu dieser Schädigung führen. Untersuchungen der leberschädigenden Aktivität halogenierter Kohlenwasserstoffe, z.B. des Tetrachlorkohlenstoffes, führten zur Aufstellung des Konzeptes, daß die primäre Schädigung durch eine von freien Radikalen initiierte Lipidperoxidation ausgelöst werde (SLATER 1975, DI LUZIO et al. 1969). Peroxidiert werden vorwiegend mehrfach ungesättigte Fettsäuren, die Bestandteil der Membranen und subzellulären Organellen sind. Den Vorgang stellt man sich für Tetrachlorkohlenstoff folgendermaßen vor: Durch Abbau von CCl_4 entsteht das hochaktive $CCl_3^{\cdot}$ -Radikal, das als Initiator der Reaktion gilt. Dieses Radikal entzieht im ersten Schritt den in den Zellen enthaltenen ungesättigten Fettsäuren Wasserstoff, wodurch diese selbst Radikalcharakter erhalten. Durch Sauerstoffaufnahme werden sie zu Fettsäure-Peroxiradikalen. Diese reagieren mit einer anderen ungesättigten Fettsäure, wodurch ein neues Fettsäureradikal und aus dem Peroxiradikal ein

Hydroperoxid entsteht (SLATER 1972). Eine Kettenreaktion schließt sich an. Dies wirkt aus mehreren Gründen schädlich: zum ersten entstehen Peroxiradikale und Hydroperoxide, die auf empfängliche Enzyme und Proteine wirken können und so den zelleigenen Stoffwechsel stören. Zum zweiten fallen wasserlösliche Verbindungen an, z.B. Malonaldehyd, von denen einige beträchtliche biologische Aktivität haben. Zum dritten stört der Abbau mehrfach ungesättigter Fettsäuren die Struktur und Funktion der Biomembranen. Es resultiert eine Schädigung der Membransysteme und subzellulären Organellen, wie vor allem der Mitochondrien, Mikrosomen und Lysosomen (SLATER 1975, PLAA and WITSCHI 1976, TAPPEL 1973, BIDLACK 1973).

Die Frage, ob eine derartige Schädigung der Membransysteme, z.B. der Mitochondrien als Ort des oxydativen Fettsäureabbaus, auch Ursache oder wenigstens Mitursache der äthanolinduzierten Fettleberschädigung sei, wurde 1968 erstmals von DI LUZIO aufgeworfen (DI LUZIO 1968). Er zeigte, daß sich die äthanolinduzierte Fettleber bessern läßt, wenn man den Versuchstieren einen antioxidativen Stoff zufüttert. Dabei hat der antioxidative Stoff die Aufgabe, die durch Äthanol induzierten Angriffe freier Radikale auf ungesättigte Fettsäuren zu verhindern und somit die Lipidperoxidation zu stoppen (DI LUZIO et al. 1969).

Obwohl diese Hypothese von HASHIMOTO und RECKNAGEL nicht bestätigt wurde (HASHIMOTO and RECKNAGEL 1968), ist sie inzwischen von mehreren Autoren unterstützt worden (KOES et al. 1974, COMPORTI et al. 1973, PLAA and WITSCHI 1976).

Es zeigte sich sowohl nach chronischer Äthanolgabe eine Erhöhung der Parameter für Lipidperoxidation (REMMER et al. 1977), als auch nach akuter Dosis (DI LUZIO 1968, KOESTER et al. 1977). Die fettige Umwandlung der Leber und die Schädigung der Mitochondrien konnte durch Zusatz von antioxidativen Stoffen verhindert werden, gleichgültig ob als schädigende Noxe Tetrachlorkohlenstoff oder Äthanol genommen wurde (DI LUZIO 1965 und 1968). Dies würde bedeuten, daß antioxidative Stoffe die Bildung von Lipidperoxiden und Lipohydroperoxiden verhindern.

Der Schädigungsmechanismus scheint also für halogenierte Kohlenwasserstoffe und für Äthanol gleich zu sein, zumal sich die Parameter der Lipidperoxidation nach Äthanol qualitativ nicht von denen bei der Induktion durch halogenierte Kohlenwasserstoffe unterscheidet (KOESTER und REMMER 1977). Lediglich konnte für die äthanolinduzierte Lipidperoxidation noch kein Initiatorradikal gefunden werden.

Ein großes Problem bei der Untermauerung der Lipidperoxidationshypothese stellte bisher die Schwierigkeit des Nachweises von Lipidperoxidation dar. Verschiedene Methoden sind schon länger bekannt: Die Thiobarbitursäure-Reaktion (SLATER 1972), der Nachweis konjugierter Diene (DI LUZIO 1968, SLATER 1972, PLAA and WITSCHI 1976), und die Bestimmung von Malonaldehyd als Produkt der Lipidperoxidation (DI LUZIO 1968, SLATER 1972). Erst mit der Entdeckung, daß bei der Maus Lipidperoxidation und die Ausatmung von

Äthan korrelieren (RIELY et al. 1974) und somit angenommen werden kann, daß Lipidperoxidation zur Äthanbildung führt (KOESTER und REMMER 1977), ergab sich die Möglichkeit, den Grad der Lipidperoxidation einfach und genau in vitro und in vivo zu messen. DILLARD et al. konnten dies bestätigen und zeigen, daß sich neben Äthan auch das Kohlenwasserstoffgas Pentan erhöht(1977), wobei dieses ein noch sensitiverer Index für Lipidperoxidation zu sein scheint. Dabei entstehen diese flüchtigen Kohlenwasserstoffe wie DUMELIN in vitro zeigen konnte (DUMELIN et al. 1977) durch den Abbau der nach Lipidperoxidation entstandenen Hydroperoxide. Äthan bildet sich vorzugsweise aus dem Zerfall von Linolensäure, Pentan aus Linol- und Arachidonsäure, Propan aus der Spaltung von Pentan.
Daß dieser Zusammenhang auch in vivo zu bestehen scheint, zeigt das Ergebnis von LITOV et al. (LITOV, IRVING et al.1978), bei dem die Pentanproduktion direkt proportional den Plasmaspiegeln von Linol- und Arachidonsäure ist. Allerdings wird durch die Messung der Kohlenwasserstoffe noch nichts über deren Bildungsort ausgesagt, also über den Ort, an dem Lipidperoxidation stattfindet. Dies scheint die Leber zu sein, da man vorwiegend in den Lebermitochondrien äthanolbehandelter Tiere Zeichen der Lipidperoxidation entdecken konnte (DI LUZIO et al. 1969, COMPORTI et al. 1973).

Es zeigt sich also, daß man mit der Messung der flüchtigen Kohlenwasserstoffe eine empfindliche und wenig belastende Methode zur Hand hat, um Lipidperoxidation in vitro und, was

bedeutsamer erscheint, in vivo zu messen. Diese Methode bietet außerdem den Vorteil, daß die zu messenden Gase bei Zimmertemperatur flüchtig sind, daß sie stabil und chemisch inert sind, und daß sie auch in sehr geringen Mengen nachweisbar sind.

LIEBERMANN und HOCHSTEIN zeigten bereits 1966, daß bei Lipidperoxidation in Pflanzenzellen entstehendes Äthylen durch Zugabe von Vitamin E vermindert wird, ebenso die Produktion von Malonaldehyd als direktes Lipidperoxidationsprodukt. Da Vitamin E, wie beispielsweise Promethazin oder Cysteamin, als Radikalfänger wirkt, und Lipidperoxidation nach SLATER durch Radikale initiiert wird (SLATER 1972), liegt nahe, die Wirkung eines Radikalfängers auf die äthanolinduzierte Lipidperoxidation in vivo anhand der Äthanbildung zu messen. Als Radikalfänger bietet sich für den Probandenversuch in vivo +-Cyanidanol-3 an, im Handel als Catergen^{R} der Firma Zyma GmbH, München erhältlich. Es handelt sich hierbei um ein Flavonoid (+-Flavan-3,3,4,5,7-1-pentol), eine chemisch reine, heterozyklische Verbindung mit zwei aromatischen Ringen. Diese tragen je zwei phenolische OH-Gruppen, der Heterozyklus eine alkoholische OH-Gruppe. SLATER hat 1975 die Interaktion von +-Cyanidanol-3 mit Freie-Radikale-erzeugenden-Systemen untersucht, und diesem Stoff eine mächtige radikalneutralisierende Wirkung zugeschrieben, besonders was $OH^{\cdot}$ und $CCl_3^{\cdot}$- Radikale anging (SLATER et al. 1975). Ferner wurde die Stabilisierung von Rattenlebermikrosomen durch +-Cyanidanol-3 beschrieben (NIEBES et al. 1975). Auch

diese Wirkung kann mit der Radikalneutralisierung und dadurch verhinderten Peroxidation von Membranlipiden zusammenhängen. Weitere schützende Wirkungen von +-Cyanidanol-3 auf die Leber sind beschrieben (WOLFERT et al. 1975, GAJDOS et al. 1975, TONGANI et al. 1975, CETTA et al. 1975, DÖLLE et al. 1977).

Die Wirkung von +-Cyanidanol-3 scheint sehr komplex. Da es relativ untoxisch ist, zudem ziemlich rasch metabolisiert und ausgeschieden wird, zeigt es sich im Probandenversuch als medizinisch und ethisch unbedenklich und anwendbar.

Ziel dieser vorliegenden Arbeit soll es deshalb sein, beim gesunden Probanden das zeitliche Verhalten der in der Atemluft nachweisbaren Lipidperoxidationsprodukte (Äthan, Propan, Pentan) nach einmaliger Äthanoldosis zu prüfen. Weiterhin soll mit Hilfe eines Doppelblindversuches die Wirkung von +-Cyanidanol-3 auf diese Parameter untersucht werden.

2. METHODIK

2.1. Verwendete Materialien

Na_2SO_4

Atemkalk

$CaCl_2$

Flüssigen Stickstoff erhielten wir vom physikalischen Institut der Universität

Äthanol, 96 %, vergällt

Äthanol reinst

Saccharose

Aqua bidest.

Venülen nach Koller Nr. 3 c, Behringwerke AG, Marburg

Gase:

Stickstoff, Wasserstoff und Synth. Luft höchster Reinheit bezogen wir von Messer Griesheim, Frankfurt ebenso Eichgasgemisch, das Äthan, Propan, Pentan in bestimmten Konzentrationen in Stickstoff gemischt enthielt. Der Gehalt der einzelnen Kohlenwasserstoffe im Eichgas wurde vom Hersteller in einem Zertifikat angegeben.

2.2. Versuchspersonen

Am Versuch beteiligten sich 24 freiwillige männliche Personen. Das Alter lag im Durchschnitt bei 26,5 Jahren (zwischen 21 und 40 Jahren), das Durchschnittsgewicht bei 74,5 kg (von 55 bis 95 kg).
Bei den Probanden wurde vor dem Versuch eine gründliche Anamnese erhoben. Es wurden nur Probanden herangezogen, die keine Lebererkrankungen, Magen- und Duodenalulzerationen oder andere systemische Erkrankungen in ihrer Vorgeschichte aufweisen. Um dies zu unterstützen, wurde vor und, zur Absicherung, nach dem Versuch von jedem Probanden Blut für eine genaue blutchemische Untersuchung abgenommen. Bestimmt wurden: Erythrozyten, Leukozyten, Hämoglobin, Hämatokrit, Quick, PTT, SGOT, SGPT, aP, γ-GT, Bilirubin, Cholesterin, Triglyceride, ein Differentialblutbild. Alle Werte sollten sich im Normbereich befinden.

Die Probanden wurden vor Beginn der Studie genau über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung aufgeklärt und mußten dann ihr schriftliches Einverständnis abgeben. Außerdem wurden sie ausdrücklich darauf hingewiesen, daß sie nach Ende der Alkoholbelastung nicht befähigt sind, ein Kraftfahrzeug zu lenken.

Eine Versicherung wurde zum Schutze der Probanden von der Firma Zyma GmbH, München abgeschlossen.

2.3. Versuchsablauf

Die 24 Probanden erhielten eine Code-Nummer und wurden dadurch zwei Versuchsgruppen zugeteilt, von denen die eine Gruppe +-Cyanidanol-3, die andere ein Placebo erhält. Die Zuteilung erfolgte zufallsverteilt, der Code-Schlüssel liegt bei der Firma Zyma, München. Es handelte sich um eine randomisierte kontrollierte Doppelblindstudie.
Die Probanden erhielten die Tabletten in neutraler Verpackung, die lediglich die Code-Nummer trug. Alle Tabletten hatten gleiche Farbe.

Die Tagesdosis von +-Cyanidanol-3 betrug ca. 3,0 g; es wurden morgens, mittags und abends jeweils vor den Mahlzeiten je 2 Tabletten mit etwas Wasser eingenommen. Mit der Tabletteneinnahme wurde bereits drei Tage vor der Alkoholbelastung begonnen, die letzte Tablette wurde unmittelbar davor eingenommen.
Vom Zeitpunkt der Tabletteneinnahme an wurden die Probanden angehalten, auf den Verzehr von stark flavonoidhaltigen Genußmitteln wie Kaffee, Tee, Zitrusfrüchten weitgehend zu verzichten, außerdem am Versuchstage das Rauchen zu unterlassen.
Der eigentliche Versuch begann am dritten Tag der Tabletteneinnahme mit der Alkoholbelastung. Dazu erhielten alle 24 nüchternen Probanden um 20.00 Uhr eine 33 %ige Lösung analysenreinen Alkohols in 0,5 % Saccharoselösung (Reinheitsgrad: Aqua bidest., Saccharose zur Dichtegradientenzentrifugation).

Die Äthanoldosis betrug 1,0 g pro kg Körpergewicht, nach der Widmarkschen Formel ergibt dies eine theoretische maximale Alkoholkonzentration von 1 - 1,4 %o (FORSTER et al. 1976). Die Verabreichung erfolgte per os innerhalb von 30 Minuten auf nüchternen Magen.
Zur Bestimmung des Nullwertes wurde den Probanden vor Gabe des Alkohols Blut zur Bestimmung des Plasmaäthanolspiegels, sowie eine Atemgasprobe zur Bestimmung der Basisausscheidung an Kohlenwasserstoffgasen entnommen. Dies wurde in stündlichem Abstand nach der Alkoholeinnahme wiederholt, also um 21.00, 22.00, 23.00, 24.00 Uhr, sowie als Kontrollwert am nächsten Morgen um 08.00 Uhr.

Die Gewinnung von Atemgasproben gelang mit Hilfe von Plastigasbeuteln der Firma Linde, München. Es handelt sich dabei um aluminiumbeschichtete Plastikbeutel mit einseitiger Öffnung. Diese Öffnung ist mit einem Blasenschlauch versehen und kann mittels einer Klemme verschlossen werden. Der Proband wurde aufgefordert, einen tiefen Atemzug durch den Schlauch in den Beutel zu exhalieren. Aus diesem gesammelten Gas wurde nach Aufbereitung Äthan, Propan und Pentan gaschromatographisch bestimmt.

Eine Schwierigkeit in dieser Hinsicht stellte die Tatsache dar, daß auch in der Atmosphäre Kohlenwasserstoffe vorhanden sind. Es gab keine Möglichkeit, einen Raum zu finden, in dem eine kohlenwasserstofffreie Luft vorhanden war. Deshalb sah man sich genötigt, zu jedem Zeitpunkt der Probandengas-

abnahme auch Raumluftgas zu sammeln, um die Kohlenwasserstoffe zu bestimmen. Mittels einer Kompressorpumpe wurde Raumluft in einen Plastikgasbeutel verbracht und dann auf die gleiche Weise aufgearbeitet, wie die Probandenproben, damit möglichst vergleichbare Werte errechnet werden konnten.

Praktisch zog sich der Versuch über 6 Abende hin, wobei jeden Abend 4 Probanden sich der Alkoholbelastung unterziehen mußten. Zwei bis dreitägige Pausen zwischen den Abenden ließen genügend Zeit, die angefallenen Proben gaschromatographisch zu bestimmen und die nächste "Sitzung" vorzubereiten.

3. PROBEAUFBEREITUNG UND -BESTIMMUNG

3.1. Blutchemische Untersuchung

Für die Bestimmung der Laborwerte wurde den nüchternen Probanden vor der Tabletteneinnahme sowie am Morgen nach der Alkoholbelastung aus der Kubitalvene Blut in laboreigenen Gefäßen entnommen. Die Untersuchungen wie auch die Differentialblutbilder wurden uns dann freundlicherweise hier im Labor der Chirurgischen Klinik bei Frau Dr. Mildner durchgeführt.

3.2. Plasmaäthanolbestimmung

Zur Blutalkoholbestimmung wurden die Proben mittels der speziellen Venülen nach KOLLER aus der Kubitalvene der Probanden gewonnen. Zur Hautdesinfektion benutzten wir alkoholfreie Desinfektionsmittel. Die gefüllten Venülen wurden kühl gelagert, die Bestimmung erfolgte freundlicherweise am hiesigen Institut für Gerichtsmedizin bei Herrn Professor Staak nach der üblichen gaschromatographischen Methode.

3.3. Atemgasanalyse

3.3.1. Entwicklung

Für diese Arbeit stellte sich das spezielle Problem, eine Meßmethode an der Hand zu haben, mit der gleichzeitig mehrere

Kohlenwasserstoffe (Äthan, Propan, Pentan) quantitativ gemessen werden könnten. Ein direktes Einspritzen des Atemgases, wie dies bei der Gaschromatographie üblich ist, kam deshalb nicht in Frage, weil die zu bestimmenden Gase nur in sehr geringen Konzentrationen (im ppb-Bereich, also 10^{-9}) vorliegen. Ein Einspritzen von 4 - 10 ml Atemgas hätte zu kleine Ausschläge gegeben, sodaß die Berechnung schwieriger und eventuell ungenauer geworden wäre. Außerdem fielen an den einzelnen Abenden der Alkoholbelastung zu viele Proben an, als daß man sie hätte sofort bestimmen können. Eine Aufarbeitung wurde nötig, die auch eine Lagerung über 2 - 3 Tage möglich machte.
In Anlehnung an die von SCHNEIDER und LÜHRS beschriebenen Methoden wurde das Atemgas auf eine sogenannte Vorsäule mit geeignetem Absorber überbracht und so auch gelagert (SCHNEIDER, mündliche Mitteilung; LÜHRS, mündliche Mitteilung).

Diese Vorsäulen (Abb. 0), eine Sonderanfertigung der Firma Carlo Erba, Hofheim/Taunus, enthielten als Absorbermaterial Porasil-C, welches am günstigsten erschien. Porasil-C absorbiert Kohlenwasserstoffe in flüssigem Zustand. Es war also nötig, die Vorsäule bei der Überführung des Atemgases soweit abzukühlen, daß die zu messenden Gase in flüssiger Form vorliegen, nicht jedoch Stickstoff und Sauerstoff als Hauptbestandteile der Atemluft. Gebraucht wurde ein Kühlmedium mit einer Temperatur unter -90° C, da Pentan zwar bei $+ 36{,}15^{\circ}$ C verflüssigt, Propan bei -42° , Äthan aber erst bei $-89{,}5^{\circ}$ C.

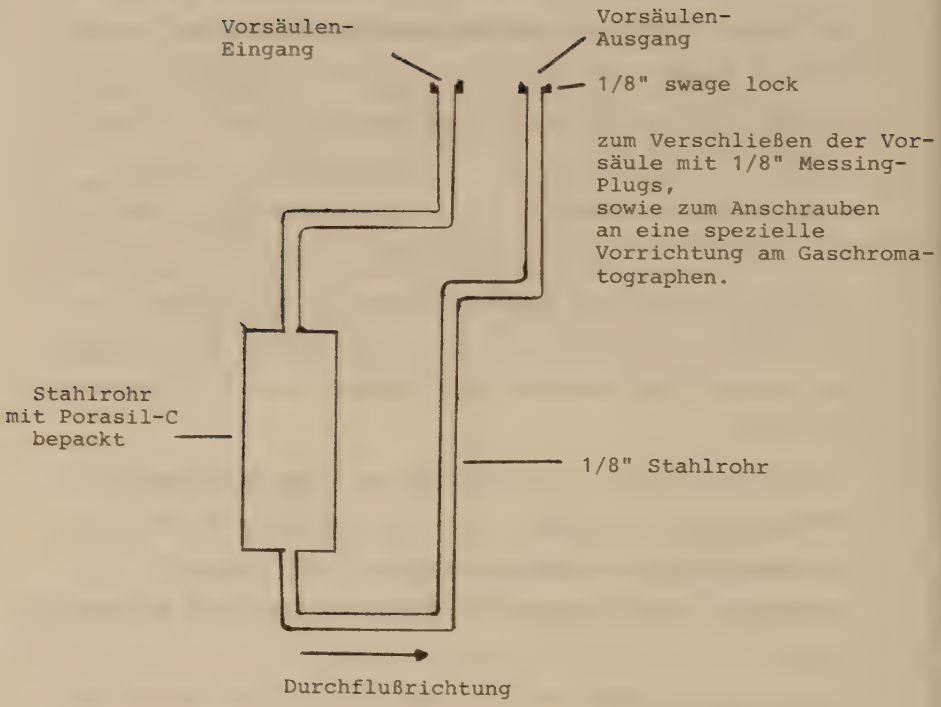

Abb. 0: Die Abbildung zeigt die Skizze der verwendeten Vorsäulen. Am Säulenein- und ausgang befinden sich 1/8" swage lock. die dem Verschluß der Säule mit 1/8" Messing-Plugs dienen, sowie das Anschrauben an eine spezielle Vorrichtung am Gaschromatographen erlauben. Die eigentliche Säule enthält das Absorbermaterial Porasil-C.

Versuche von LÜHRS mit Aceton-Trockeneis-Gemisch zeigten eine gute und repoduzierbare Meßbarkeit für Propan und Pentan, leider aber nicht für Äthan. Hierfür war wohl eine niedrigere Temperatur notwendig. Da das Kühlmedium ungefährlich in der Handhabung und auch kostengünstig sein sollte, entschloß man sich schließlich zu einer Mischung aus vergälltem Äthanol 96 %ig und flüssigem Stickstoff.
Legt man viel Äthanol vor und gibt vorsichtig wenig flüssigen Stickstoff hinzu, erhält man durch kräftiges Rühren eine weißlich zähe Masse, ähnlich einem Zuckerguß. Die Temperatur liegt dann zwischen -110° und -120° C. Dies genügt um auch Äthan quantitativ zu messen.

Erste Vorversuche mit dieser Methode, wobei als "Probe" eine Mischung aus reinstem Sauerstoff und Eichgas auf die Vorsäulen überführt wurde, zeigte für alle uns interessierenden Kohlenwasserstoffe eine gute Reproduzierbarkeit. Wir variierten zuerst die aufgezogene Gasmenge zwischen 100 ml und 600 ml, um zu sehen, in welchem Bereich eine eindeutige Linearität besteht. Diese zeigte sich zwischen 100 ml und 400 ml mit einem Korrelationskoeffizienten für lineare Korrelation von r = 0,995 für Äthan, r = 1,0 für Propan und r = 0,995 für Pentan. Man entschloß sich deshalb, zukünftig 300 ml Atemgas auf die Vorsäule aufzuziehen, da dies mit Sicherheit im linearen Bereich liegt.

Weiterhin erstellten wir Eichkurven, wobei 300 ml Sauerstoff/ Eichgas- Gemisch verschiedener Konzentration aufgezogen wurde.

Auch die Eichkurven zeigten eine gute Linearität, mit $r = 0{,}998$ für Äthan, $r = 1{,}0$ für Propan und $r = 0{,}972$ für Pentan.

Aufgrund dieser guten Korrelation schlossen wir auf quantitative Überführbarkeit und arbeiteten mit dieser Methode. Die Lagerung der gasgefüllten Vorsäulen erfolgte in 10 l Dewargefäßen, die halb mit flüssigem Stickstoff gefüllt waren. Der Verschluß der Vorsäulen mit Messingschraubkappen ("Plugs") hat sich dabei als genügend gasdicht erwiesen. Vor der gaschromatographischen Bestimmung wurden die gelagerten Vorsäulen 5 - 10 min. im Äthanol/flüssig N_2 -Gemisch "aufgetaut".
Die Reinigung gebrauchter Vorsäulen erfolgte im Ölbad bei ungefähr $+150^{\circ}$ C für 10 Minuten. Die Vorsäulen wurden während dieser Zeit und während des Abkühlens an der Luft mit Sauerstoff durchspült (Durchfluß etwa 10 ml/min). Abschließend wurden sie mit Messing-Plugs wieder verschlossen und konnten erneut verwendet werden.

3.3.2. Aufbereitung und Bestimmung der Atemgasproben

Aus den mit Probandenluft gefüllten Plastigasbeuteln wurden 300 ml Atemgas in eine gasdichte Spritze gezogen. Zur Entfernung von Kohlendioxid und exspiriertem Wasserdampf wurde das Gas vor der Spritze durch eine Glaspatrone geleitet, die mit $CaCl_2$ und Atemkalk versehen ist. Die beiden Stoffe

sind getrennt durch eine Fritte, die Glaspatrone wurde eigens hergestellt von der Firma Bachofer, Reutlingen. Die nunmehr kohlendioxidfreie und entwässerte Atemluft wurde nun mittels einer Kompressorpumpe, ebenfalls der Firma Bachofer, Reutlingen, auf die Vorsäule quantitativ überbracht.

Die Vorsäulen wurden zur Abkühlung vorher ungefähr 5 min. in das Kühlmedium aus Äthanol/flüssig N_2 bei -120° gehängt, wobei der Vorsäulenausgang fest verschlossen blieb, am Vorsäuleneingang jedoch ein Plastigasbeutel mit reinem Sauerstoff angebracht war, damit während der Abkühlung keine Umgebungsluft angesaugt wurde, sondern indifferenter Sauerstoff.
Nach 5 Minuten wurde dann die in der Gasspritze befindliche Atemgasprobe mittels der Pumpe über die gekühlte Vorsäule gezogen, die Vorsäule durch Messing-Plugs fest verschlossen, mit Kennzeichen versehen und zur Lagerung in flüssigen Stickstoff gehängt.

Vor der gaschromatographischen Bestimmung wurden die gelagerten Vorsäulen zuerst 5 - 10 Minuten in Äthanol/flüssig N_2 "aufgetaut", dann an den Gaschromatographen angeschraubt. Wir benutzten dabei die Vorrichtung, wie sie bei SCHNEIDER und bei LÜHRS ausführlich beschrieben wurde.
Die dicht angeschraubten Vorsäulen wurden nun mit Trägergas durchströmt, aus dem Kühlmedium herausgenommen und sofort mit Hilfe eines Wasserbades auf ungefähr $+60^{\circ}$ bis $+80^{\circ}$ C aufgeheizt.

Zur Messung benutzten wir einen Gaschromatographen der Firma Hewlett Packard Modell 5720 mit Flammenionisationsdetektor.

Trägergas: Stickstoff befeuchtet mit $Na_2SO_4 \cdot 10\ H_2O$
Durchfluß 30 ml/min.

Flamme : Wasserstoff, Durchfluß 30 ml/min.
synthetische Luft, Durchfluß 4 ml/min.

Detektor : Flammenionisationsdetektor, 200° C

Säule : 5 m Stahlsäule, Außendurchmesser 4 mm,
bepackt mit Porasil-C,
bezogen von der Firma Carlo Erba,
Hofheim/Taunus.

Die Chromatogramme wurden aufgezeichnet von einem angeschlossenen Integrator, ebenfalls der Firma Hewlett Packard, Modell 3380 A. Das Gerät ist zudem in der Lage, die Flächen unter den Peaks gleich zu integrieren und nach geeigneter Programmierung den Absolutbetrag zu berechnen.
Zur Programmierung des Integrators war es notwendig, jeden Tag eine Eichung durchzuführen. Zu diesem Zweck wurden verschieden konzentrierte Gemische von Sauerstoff und Eichgas auf Vorsäulen überbracht und gaschromatographisch bestimmt. Daraus ließ sich für jeden Tag ein Tageseichfaktor berechnen, der zur Grundlage der Auswertung wurde.

3.4. Auswertung

Zur Auswertung und Berechnung der Kohlenwasserstoffkonzentrationen wurden die vom Integrator ausgedruckten Integrationseinheiten herangezogen. Durch tägliches Chromatographieren einer Eichprobe unterschiedlicher Konzentration, konnten wir jeweils einen Tages-Eichfaktor aus dem Verhältnis

$$\frac{\text{Kohlenwasserstoffgasmenge in der Eichprobe [ppb]}}{\text{ausgedruckte Integrationseinheiten}}$$

bestimmen.
Von allen Tages-Eichfaktoren wurde der arithmetische Mittelwert und die Standardabweichung errechnet. Alle Eichfaktoren, die innerhalb $\bar{x} \pm s$ liegen, wurden zur Berechnung verwendet, ansonsten der Mittelwert herangezogen. Diese Tages-Eichfaktoren dienten als Grundlage für die Berechnung der an diesem Tage chromatographierten Proben. Dies schien uns deshalb notwendig, um eventuelle Schwankungen der Absorption und Trennung der Gase durch die Trennsäule auszugleichen.

Aus der Gesamtheit aller Tages-Eichungen lassen sich Eichkurven erstellen, die für alle drei Gase gute Korrelationskoeffizienten für die lineare Regression zeigen:
Äthan $r = 0.98$, Propan $r = 1.0$, Pentan $r = 1.0$.

Von den errechneten Probanden-Werten, ausgedrückt in ppb (parts per billion entspricht 10^{-9}), wurden die jeweils

zugehörigen Raumluftwerte, ebenfalls in ppb, abgezogen. Hierbei zeigte sich, daß einige Probanden geringere Konzentrationen an Hydrocarbongasen in ihrer Ausatemluft hatten, als in der Raumatmosphäre vorhanden war. Es ergaben sich daher rechnerisch negative Konzentrationen. Auf dieses Problem wird an anderer Stelle näher eingegangen.

Die statistische Auswertung erfolgte hier im Institut für medizinische Biometrie der Universität Tübingen, für die Ausführung möchte ich Herrn Dr. Deichsel an dieser Stelle herzlich danken.
Die Signifikanz-Prüfung erfolgte durch den multivariaten Profilvergleich, Hotelling-Test.
Zur Signifikanzberechnung zog der Computer lediglich diejenigen Probandenverläufe heran, bei denen alle Werte vollständig waren. Einige Einzelwerte waren aufgrund technischer Schwierigkeiten (Undichtigkeiten von Schleifen, Schwierigkeiten mit dem Chromatographen) herausgefallen.

4. ERGEBNISSE

4.1. Befinden der Probanden

Die Mehrzahl der Probanden hat die Alkoholbelastung gut vertragen. Ungefähr die Hälfte zeigte eine eher alkoholisch-euphorische Stimmung, die andere Hälfte wurde eher gedämpft. Ein Proband der Catergen-Gruppe klagte über Übelkeit seit Beginn der Tabletteneinnahme, ein zweiter aus dieser Gruppe erbrach 3 Stunden nach Alkoholeinnahme, fühlte sich danach wieder etwas besser.
In der Placebogruppe klagten insgesamt 4 Probanden über Übelkeit und Brechreiz ungefähr 2 Stunden nach Alkoholgenuß, weitere 2 Probanden erwähnten eine verstärkte Müdigkeit seit Beginn der Tabletteneinnahme. Insgesamt wurde Catergen aber gut vertragen.

4.2. Änderungen der blutchemischen Werte

4.2.1. Blutbilder

Die Bestimmung vpm Erythrocyten, Leukocyten, Hämoglobin, Hämatokrit und den Gerinnungswerten Quick und PTT vor der Alkoholbelastung zeigte bei keinem der Probanden eine Abweichung von der Norm. Auch nach der Alkoholbelastung war trotz geringer Schwankungen einzelner Werte keine Normabweichung festzustellen.
Lediglich bei den Differentialblutbildern sah man Veränderungen.

In der Catergengruppe verschlechterte sich das Differentialblutbild in 4 Fällen im Sinne einer Vermehrung der Lymphocyten auf Kosten der Segmentkernigen. In weiteren 3 Fällen trat die umgekehrte Verschiebung auf. In der Placebogruppe sah man diese Verschiebung zur Lymphocytose nur in 2 Fällen, 2 Probanden besserten sich.

4.2.2. Transaminasen

Von den Lebertransaminasen bestimmten wir SGOT, SGPT, aP und γ-GT. Die Werte lagen vor dem Versuch bei allen Probanden im Normbereich, was ja eine Vorbedingung zur Teilnahme war.
Bei 4 Probanden der Catergengruppe und nur einem Probanden der Placebogruppe sanken die Werte nach der Alkoholbelastung weiter ab. In 2 Fällen der Placebogruppe war ein Anstieg zu verzeichnen, die Normgrenze wurde in keinem Fall überschritten. Das Absinken der Transaminasen bei catergenmedizierten Probanden deckt sich mit der Beobachtung verschiedener Autoren, die bei der Behandlung der akuten Virushepatitis mit Catergen^{R}(+-Cyanidanol-3) ein schnelleres Absinken der Serum-Transaminasen beschrieben haben (BLUM und Mitarbeiter 1977, REHMANN et al. 1977).

4.2.3. Serumbilirubin

Die Serumbilirubinwerte lagen bei 22 Probanden vor der Alkoholbelastung innerhalb der Normgrenzen. Nur zwei Probanden zeigten eine leichte Erhöhung (1,6 bzw. 1,8 mg%). Bei 22 Probanden, auch einem der obengenannten, sanken die Werte nach dem Versuch erheblich, die Senkungsraten lagen zwischen 1,1 und 0,1 mg% (beispielsweise sank der Wert des obengenannten Probanden von 1,6 mg% auf 0,5 mg%).
Nur zwei Probanden der Catergengruppe zeigten eine leichte Erhöhung der Serumbilirubinwerte, und zwar zwischen 0,3 mg% und 0,5 mg%.
Auch hier zeigt sich also in der Mehrzahl eine Besserung der Laborwerte, wie sie auch bei BLUM für die Virushepatitis beschrieben ist (BLUM et al. 1977).

4.2.4. Serum-Triglyceride

Die Triglyceridspiegel lagen sämtlichst innerhalb der Norm. Lediglich bei 2 Probanden der Catergengruppe und nur 1 Proband der Placebogruppe zeigte sich nach Alkoholbelastung ein Anstieg der Serumtriglyceride, wobei sich natürlich nachträglich die Frage stellt, ob diese beiden Probanden bei der Blutabnahme auch wirklich nüchtern waren.

4.3. Blutalkoholspiegel

Die Alkoholwerte waren sehr abhängig von der individuellen Resorptionsquote. Sie zeigten ihr Maximum nach 60 Minuten, in einzelnen Fällen auch erst 120 Minuten nach Beginn der Alkoholaufnahme. Sie fielen relativ langsam wieder ab, um nach 12 Stunden nahezu den Nullwert erreicht zu haben.
Der höchste Spitzenwert lag bei 1,27 %o nach 60 Minuten, der niedrigste Spitzenwert bei 0,76 %o ebenfalls nach 60 Minuten.
Was die Blutalkoholspiegel anbetraf zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Catergen- und der Placebogruppe. Ein solcher war auch nicht zu erwarten gewesen, da Catergen nicht auf Resorption oder Abbau von Alkohol einwirkt.

Tabelle 1 zeigt die durchschnittlichen Alkoholspiegel vor sowie 1, 2, 3, 4 und 12 Stunden nach Beginn der Alkoholeinnahme. Aufgestellt sind Mittelwerte und Standardabweichungen, Catergen- und Placebogruppe im Vergleich untereinander.

Tab. 1: Durchschnittliche Alkoholspiegel in %o vor sowie 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nach Beginn der Alkoholaufnahme; Mittelwerte und Standardabweichungen

	vorher	1h	2h	3h	4h	12h	nachher
Catergengruppe	0	0,92 ±0,21	0,93 ±0,12	0,87 ±0,16	0,77 ±0,12	0,007 ±0,012	
n = 13							
Placebogruppe	0	0,83 ±0,16	0,95 ±0,11	0,89 ±0,11	0,80 ±0,11	0,04 ±0,09	
n = 11							

4.4. Kohlenwasserstoffgase

Auf den ersten Blick zeigen die Verläufe der Kohlenwasserstoffe der einzelnen Probanden wie auch der Raumluft größere Schwankungen. Teilweise ist die Gaskonzentration in der Ausatemluft sogar kleiner als in der Umgebungsatmosphäre. Dies führt dazu, daß rechnerisch negative Konzentrationen auftreten.Wie dies zustande kommt, daß die Probanden weniger ein- als ausatmen, ist nicht ganz klar. Es wäre allerdings denkbar, daß die eingeatmeten Kohlenwasserstoffe im Körper einem Abbau unterliegen, der individuell unterschiedlich ist. Es sei an dieser Stelle auf eine Arbeit von LÜHRS verwiesen.

Trägt man die Differenz von Probanden- und Umgebungskonzentration graphisch auf, zeigen sich bei unseren Probanden drei Typen von Verläufen; und zwar unabhängig davon, ob es sich um einen Probanden aus der Cyanidanol- oder Placebogruppe handelt:

Typ 1 zeigt einen initialen Anstieg mit nachfolgendem Abfall; in Abbildung 1a ist solch ein Verlauf als Beispiel dargestellt.

Typ 2 zeigt einen initialen Abfall und nachfolgenden Anstieg (Abb. 1b), und schließlich

Typ 3 einen alternierenden Verlauf, also abwechselnd Anstieg und Abfall (Abb. 1c).

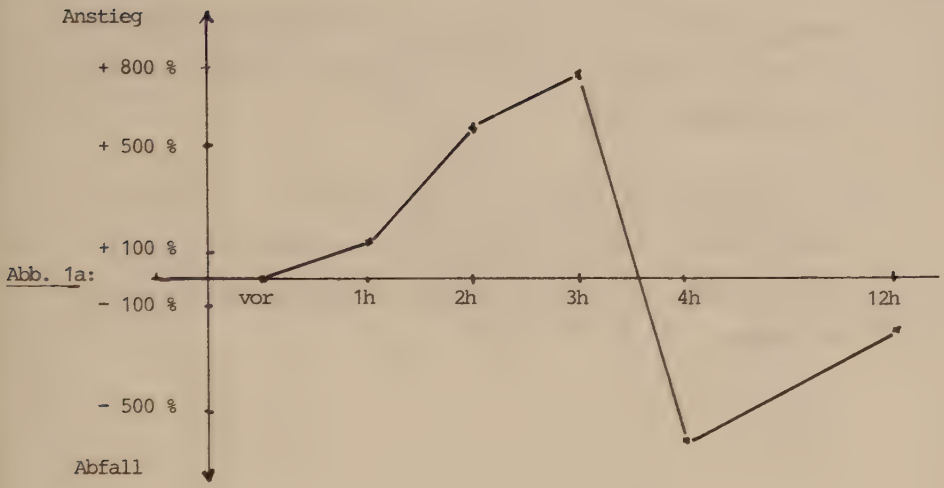

Abb. 1a:

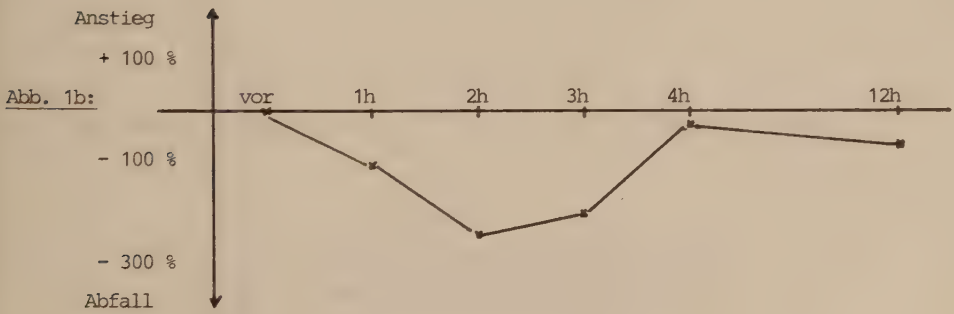

Abb. 1b:

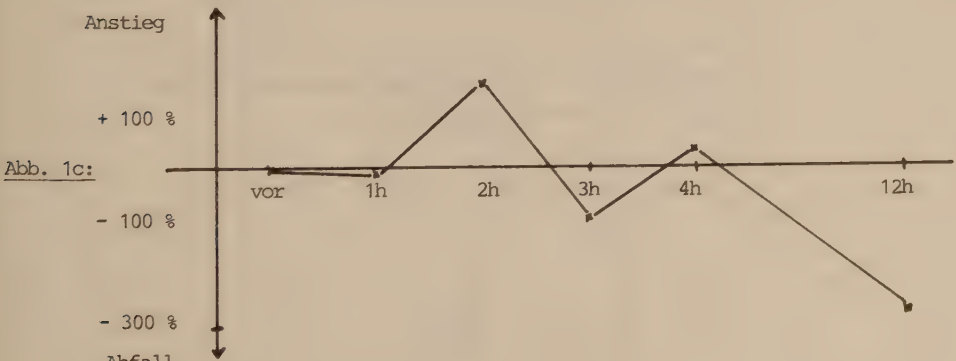

Abb. 1c:

Insgesamt ergibt sich daher zu den einzelnen Zeiten eine starke Streuung, die nicht in allen Fällen einer einheitlichen Tendenz folgt.

Die folgenden Tabellen und Schaubilder zeigen die durchschnittlichen Gaskonzentrationen zu den einzelnen Zeitpunkten, jeweils Mittelwerte und Standardabweichungen sind aufgeführt.

Text zu Abbildung 1 a,b,c: (Abbildungen siehe Seite 27)

Beispiele von individuellen Kohlenwasserstoffverläufen am Beispiel Äthan. Dargestellt sind die Differenz Probandenwert abzüglich Raumluftkonzentration. Die Werte 1h, 2h, 3h, 4h, 12h nach Alkoholeinnahme sind bezogen auf den Ausgangswert vor Alkoholeinnahme.

a) Typ 1, Initialanstieg mit folgendem Abfall
b) Typ 2, Initialabfall mit folgendem Anstieg
c) Typ 3, alternierender Verlauf

4.4.1. Äthan

Tab. 2: Durchschnittliche Äthankonzentration in der Ausatemluft vor sowie 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nach Beginn der Alkoholeinnahme. Mittelwerte und Standardabweichungen in ppb.

	vorher	1h	2h	3h	4h	12h nachher
Catergengruppe	1,358	-0,229	0,491	-1,527	0,571	-1,434
	±4,080	±2,731	±3,298	±3,159	±1,846	±4,015
n = 9						
Placebogruppe	0,902	1,262	0,062	-0,417	0,885	-1,344
	±1,860	±1,621	±3,692	±2,481	±2,375	±3,936
n = 10						

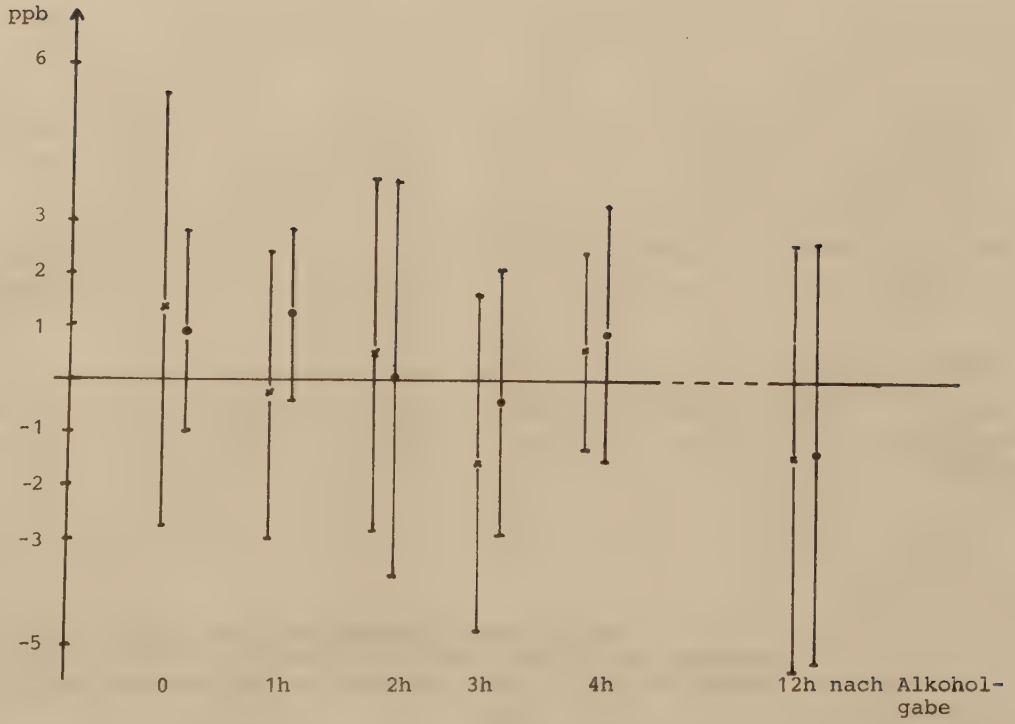

Abb. 2a: Graphische Darstellung der Äthankonzentrationen im zeitlichen Verlauf vor, 1,2,3,4,12 Stunden nach Beginn der Alkoholaufnahme; Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung.
x - Catergengruppe, o - Placebogruppe, $p > 0,1$.

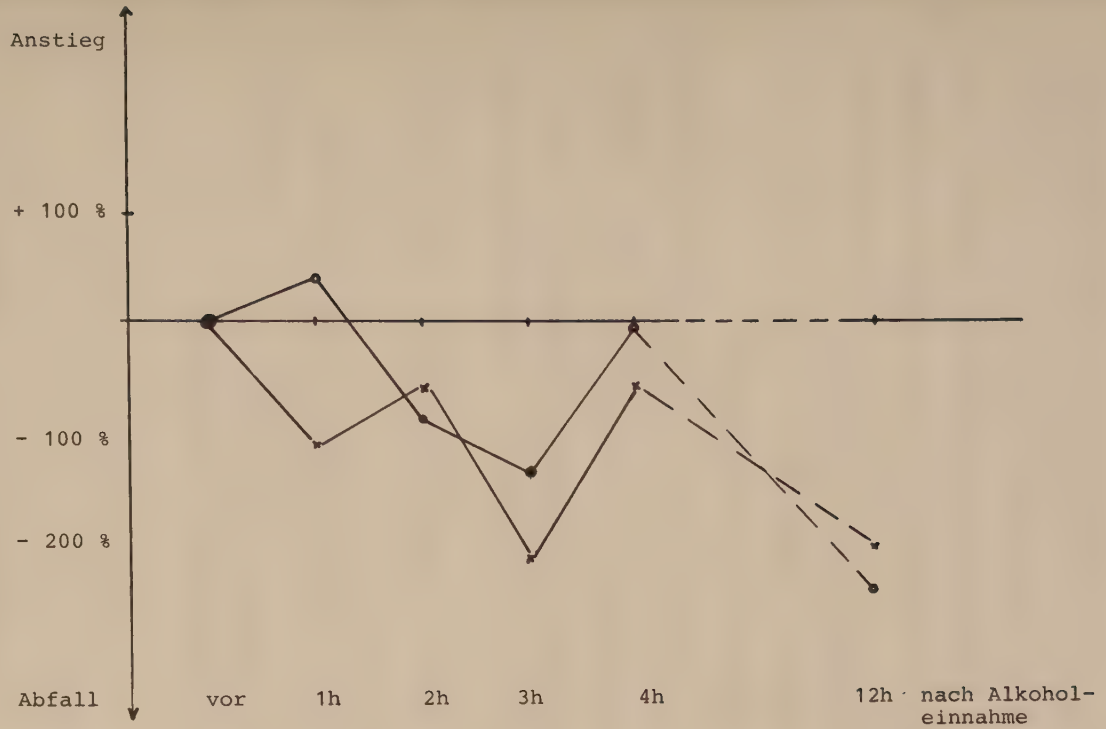

Abb. 2b: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der Äthankonzentration bezogen auf den Wert vor Alkoholeinnahme, 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nachher.
x - Catergengruppe, o - Placebogruppe

Die Äthankonzentration zeigt in der Catergengruppe durchschnittlich in der ersten Stunde einen ziemlich starken Abfall. Betrachtet man den ersten Mittelwert vor Alkoholgenuß als Ausgangswert und setzt ihn gleich 100 Prozent, ergibt sich in der ersten Stunde ein durchschnittlicher Abfall der Äthankonzentration um 116,86 %, in der zweiten Stunde lediglich um 63,84 %. Vergleichsweise steigt die Äthankonzentration in der Placebogruppe durchschnittlich in der ersten Stunde um rund 40 %, fällt aber in der zweiten Stunde um 93,13 % wieder ab (vgl. Abb. 2a und 2b).
Es zeigt sich zwar nach einer Stunde ein gewisser Unterschied zwischen der Catergengruppe und der Placebogruppe, dergestalt, daß die Konzentration in der Placebogruppe höher ist als in der Catergengruppe, wie dies auch zu erwarten wäre, aber bereits in der zweiten Stunde kehrt sich dieses Verhältnis wieder um.
Insgesamt zeigen die beiden Profile keinen signifikanten Unterschied, $p > 0,1$.
Wir konnten also weder bestätigen, daß nach Alkoholgabe die Äthankonzentration wesentlich ansteigt, noch, daß mit Catergen die Ausatmung von Äthan signifikant verhindert werden kann gegenüber einer Placebogruppe.

4.4.2. Propan

Ein etwas anderes Bild zeigt sich bei der Konzentration von Propan. Hier weist die Placebogruppe einen deutlichen

durchschnittlichen Anstieg zu jedem Zeitpunkt auf, besonders aber nach 3, 4 und 12 Stunden, und zwar um 469,84 %, 732,70 %, 774,29 %, jeweils ausgehend vom Mittelwert vor Alkoholbelastung (Tab. 3 und Abb. 3a und Abb. 3b).

Tab. 3a: Durchschnittliche Propankonzentration in der Ausatemluft vor Alkoholgabe sowie 1, 2, 3, 4 und 12 Stunden nachher. Mittelwerte und Standardabweichungen in ppb.

	vorher	1h	2h	3h	4h	12h nachher
Catergengruppe	1,847	0,503	1,221	1,497	1,189	1,474
	±4,077	±1,411	±1,023	±2,113	±1,835	±1,974
n = 9						
Placebogruppe	-0,315	-0,043	-0,091	1,165	1,993	2,124
	±2,486	±1,156	±1,640	±2,089	±1,817	±2,575
n = 11						

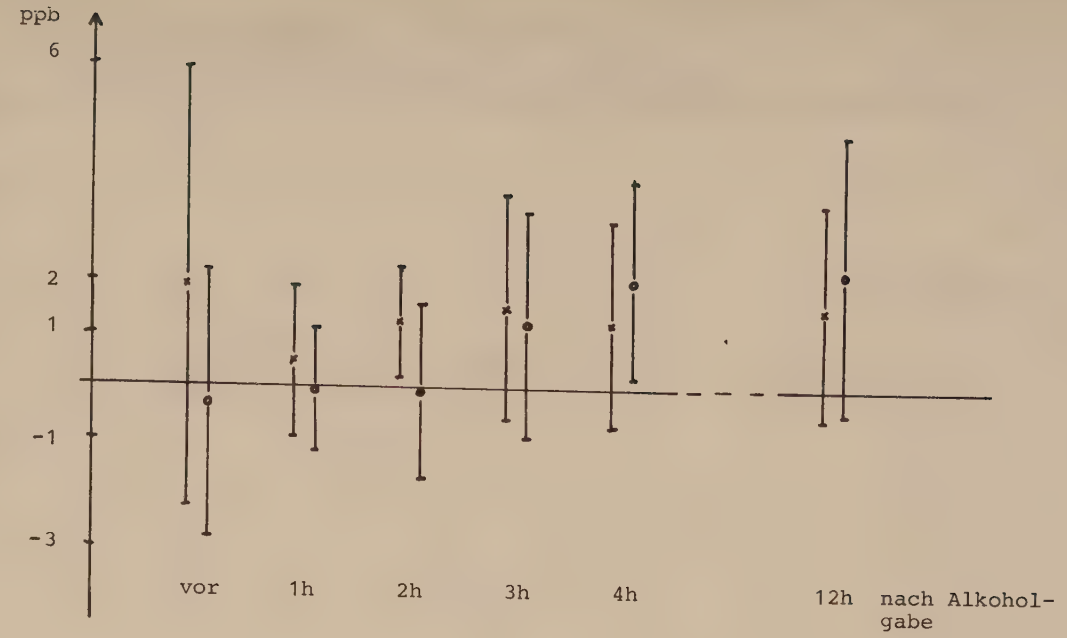

Abb. 3a: Graphische Darstellung der Propankonzentrationen im zeitlichen Verlauf vor Alkoholgabe sowie 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nach Beginn der Alkoholaufnahme.
Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung.
x - Catergen, o - Placebo, $p < 0{,}636$

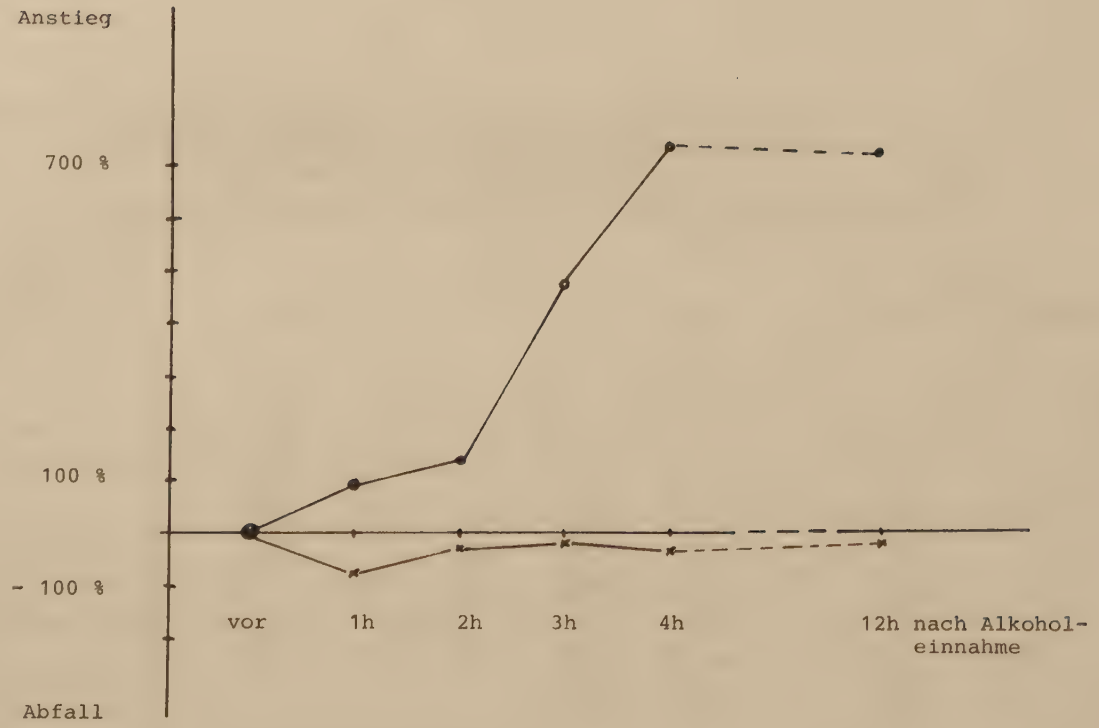

Abb. 3b: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der Propankonzentration bezogen auf den Wert vor Alkoholeinnahme, 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nachher.
x - Catergengruppe, o - Placebogruppe

Die Propankonzentration der Catergengruppe zeigt demgegenüber deutlich fallende Tendenz, am stärksten nach einer Stunde mit 72,77 % Abfall (vgl. Tab. 3, Abb. 3a, 3b). Hier zeigt sich schon deutlicher ein Verhalten unserer Erwartung, allerdings sind auch hier die Profilunterschiede leider nicht signifikant, wenn auch offensichtlich; $p < 0{,}636$.

4.4.3. Pentan

Auch hier ist, vergleichbar zum Propan, ein deutlicher Unterschied zwischen Catergen- und Placebogruppe zu verzeichnen. In der Placebogruppe sieht man in den ersten drei Stunden nach Alkoholgabe jeweils erhebliche Anstiege, und zwar um 87,91 %, in der ersten und 130,40 % in der zweiten sowie 98,75 % in der dritten Stunde. Die Konzentration sinkt dann wieder ab, in der vierten Stunde um 14,96 %, erreicht nach 12 Stunden einen neuen Höhepunkt mit einem Anstieg um 542,99 %. Demgegenüber zeigt sich in der Catergengruppe eher fallende Tendenz, zwischen 16 und 30 %, nur nach 12 Stunden ein Anstieg um 30,61 %. Auch hier läßt sich allerdings trotz der augenscheinlichen Profilunterschiede keine Signifikanz errechnen; $p < 0{,}835$.
(Vgl. Tab. 4, Abb. 4a u. 4b).

Tab. 4: Durchschnittliche Pentankonzentration in der Ausatemluft vor Alkoholgabe sowie 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nachher. Mittelwerte und Standardabweichungen in ppb.

	vorher	1h	2h	3h	4h	12h nachher
Catergengruppe	5,798	4,836	4,853	4,793	3,983	7,573
	±11,323	±5,078	±4,985	±5,669	±6,420	±11,156
n = 9						
Placebogruppe	1,684	3,161	3,880	3,347	1,432	10,828
	± 2,431	±3,203	±6,452	±4,579	±1,965	±16,639
n = 11						

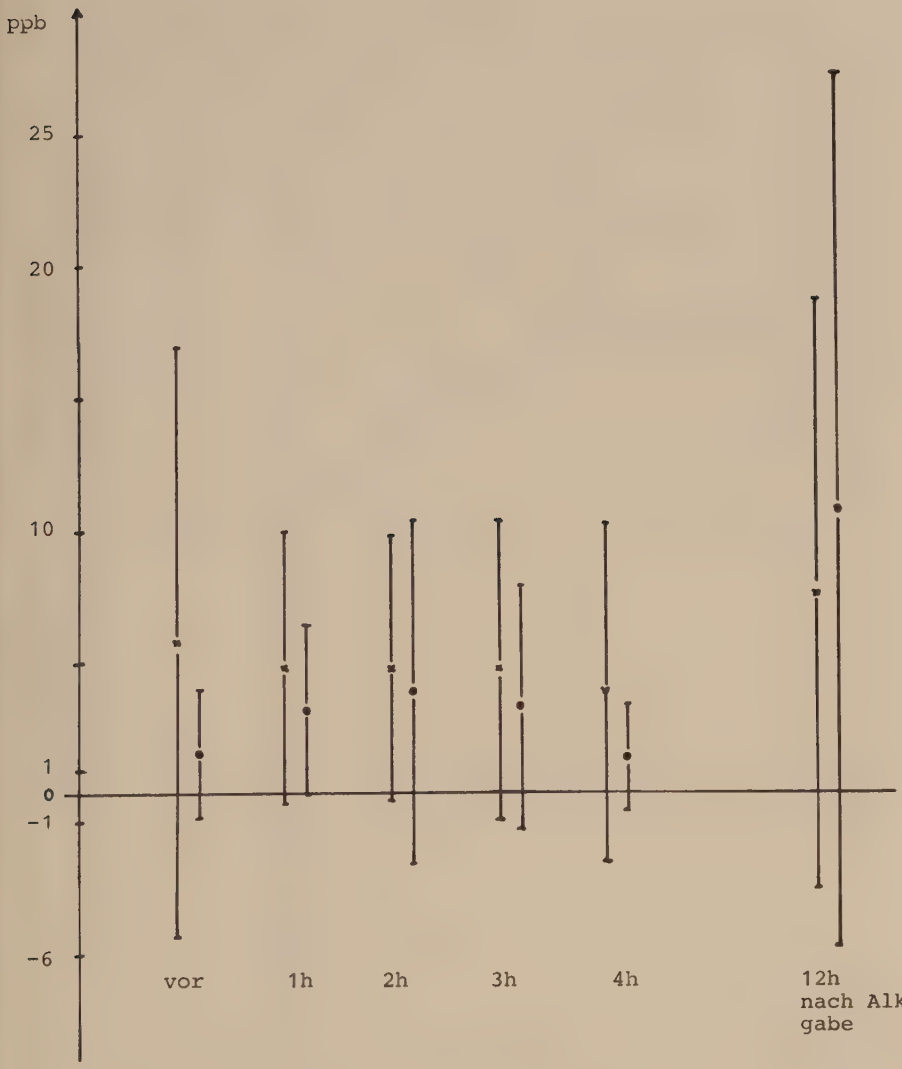

Abb. 4a: Graphische Darstellung der Pentankonzentration im zeitlichen Verlauf vor Alkoholgabe sowie 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nach Beginn der Alkoholgabe. Darstellung von Mittelwert und Standardabweichung.
x - Catergengruppe, o - Placebogruppe, $p \leq 0{,}835$.

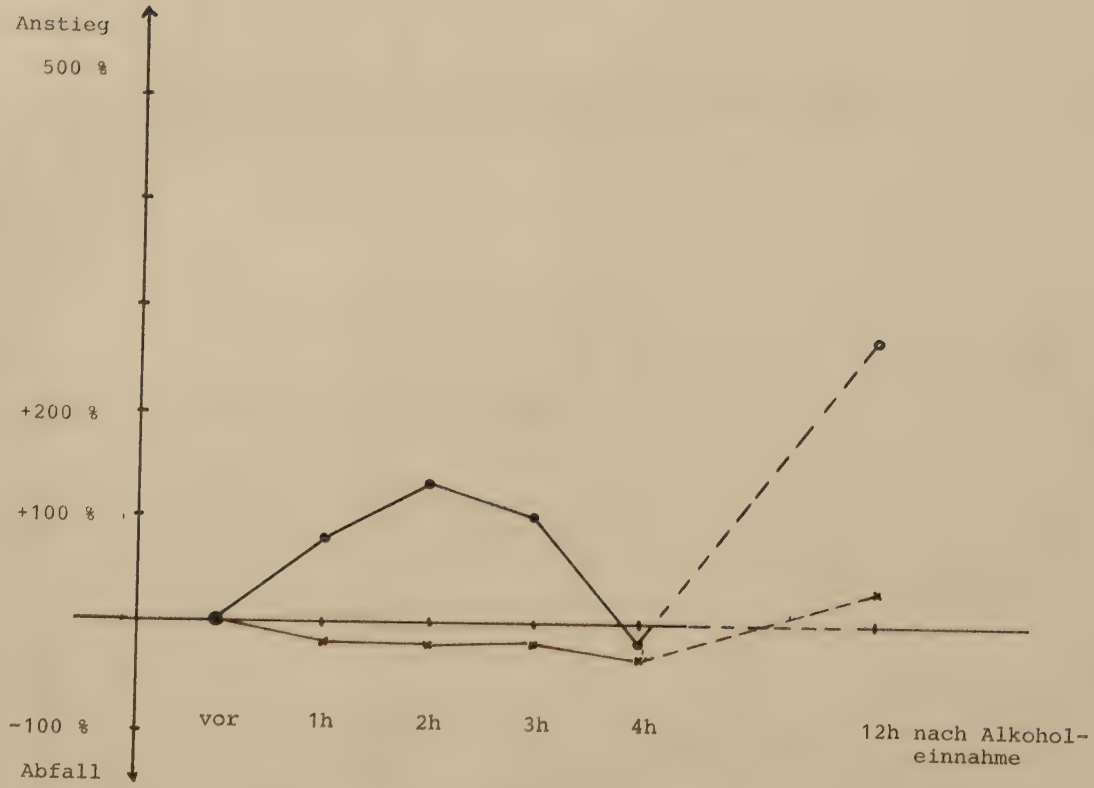

Abb. 4b: Graphische Darstellung der prozentualen Änderung der Pentankonzentration bezogen auf den Wert vor Alkoholeinnahme, 1, 2, 3, 4, 12 Stunden nachher. x - Catergengruppe, o - Placebogruppe.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß sich zwar bei allen Konzentrationsverläufen ein Unterschied zwischen Catergen- und Placebogruppe zeigt -im Äthanverlauf weniger deutlich-, daß aber in keinem Fall ein signifikanter Unterschied zu verzeichnen ist. Damit konnte leider nicht bewiesen werden, daß eine Medikation von Catergen^{R} (+-Cyanidanol-3) die Lipidperoxidation in der Leber verhindert und dadurch zu einer verminderten Ausatmung von Kohlenwasserstoffen als Abfallprodukte der Lipidperoxidation führt. Allerdings ist ebensowenig gezeigt worden, ob Alkoholgabe, in der von uns gewählten Dosis, überhaupt zu einer Lipidperoxidation führt, oder ob die in der Placebogruppe verzeichneten Anstiege lediglich ein Zufallsergebnis sind.

5. DISKUSSION

Ausgehend von der Hypothese, daß Alkohol zur Schädigung der Leber durch Peroxidation ungesättigter Fettsäuren führt (KÖSTER und REMMER 1977), sowie den Beobachtungen, daß gewisse Stoffe, die als Radikalfänger wirken, Lipidperoxidation verhindern (DILLARD et al. 1977, DI LUZIO et al. 1965, DI LUZIO 1968, KAPPUS et al. 1978, LITOV et al. 1978) war es unser Ziel, das zeitliche Verhalten der Lipidperoxidationsprodukte nach einmaliger Alkoholgabe unter gleichzeitiger Medikation von +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) als Radikalfänger zu beobachten.
Als Lipidperoxidationsnachweis wählten wir die von RIELY erstmals beschriebene Bestimmung von Kohlenwasserstoffgasen in der Ausatemluft (RIELY et al. 1974), allerdings bestimmten wir neben Äthan noch Propan und Pentan.

Die von uns erarbeitete Methode ermöglicht es, alle drei Kohlenwasserstoffgase in einem Arbeitsgang zu bestimmen. Sie ist relativ einfach und erlaubt den Lipidperoxidationsnachweis in vivo ohne große Belastung der Probanden. Vorversuche bestätigten, daß die Gase quantitativ bestimmt werden können, trotzdem sie nur in derart geringen Konzentrationen vorkommen. Die Methode erwies sich ebenfalls recht kostengünstig und sicher, lediglich die Apparatur zeigte bei uns eine gewisse Störanfälligkeit.

Der Versuch an sich war in seinem Aufbau sehr gut geplant und lief daher ohne Komplikationen ab. Die Probanden waren

allesamt sehr zuverlässig und kooperativ. Schwierigkeiten bereitete lediglich der Versuchsraum, in dessen Atmosphäre der Gehalt an Kohlenwasserstoffgasen relativ hoch war und auch während des Versuches leider nicht stabil gehalten werden konnte. Zu unserem Bedauern hatten wir nicht die Möglichkeit, den Versuch in einer "Gaskammer" mit kohlenwasserstofffreier Atmosphäre durchführen zu können, was sicherlich zu noch genaueren Ergebnissen geführt hätte. Dadurch aber, daß wir zu jedem Zeitpunkt der Atemluftbestimmung auch die Raumluftkonzentration bestimmten, und somit stets eine probandeneigene Ausatmung durch Differenz der beiden Konzentrationen ermitteln konnten, glauben wir, die größtmögliche Genauigkeit erzielt zu haben.

Ein weiteres Problem stellte die Alkoholdosis dar. Wir wählten diese Dosierung, weil wir der Ansicht sind, daß ein Blutalkoholspiegel von 1,0 - 1,4 ‰ durchaus zumutbar und verträglich und deshalb auch ethisch unbedenklich ist. Ein höherer Spiegel stellt in unseren Augen eine Gefährdung der Probanden dar, die wir auf keinen Fall eingehen wollten. Höhere Spiegel mit höherem Risiko werden auch in Zukunft dem Tierversuch vorbehalten bleiben müssen.

Ebenfalls als ethisch unbedenklich und nebenwirkungsfrei hat sich die Medikation mit +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) erwiesen. Dies durfte aufgrund verschiedener klinischer Studien auch angenommen werden.

Wie schon KÖSTER zeigte auch LITOV 1978 eine Erhöhung der Kohlenwasserstoffe in der Ausatemluft von Ratten, die eine einmalige Dosis Alkohol erhielten (KÖSTER et al. 1977, LITOV et al. 1978). LITOV beschrieb außerdem, daß die Erhöhung noch größer war, wenn den Ratten eine Vitamin E-freie Kost zugeführt wurde. Die Pentanproduktion hatte in seinen Versuchen nach einer Stunde ihren Höhepunkt und sank danach langsam wieder ab. Er folgerte daher, wie vorher schon KÖSTER, daß auch durch einmalige Alkoholgabe in der Leber eine Lipidperoxidation angeregt wird.

Derselben Ansicht, erwarteten wir bei unserer Versuchsanordnung daher einen Anstieg der Äthan-, Propan- und Pentanausatmung nach Alkoholbelastung auch beim Probanden in vivo, wobei für die mit +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) medizierte Gruppe ein abgeschwächtes oder gar völlig ausbleibendes Ansteigen zu bestätigen war. Leider konnten wir nichts dergleichen beobachten. Stattdessen zeigten sich bei den einzelnen Probanden unterschiedliche individuelle Verläufe, wie dies aus ABBILDUNG 1a-c zu ersehen ist. Diese individuellen Verläufe waren sowohl in der Catergen- als auch der Placebogruppe zu verzeichnen, sodaß in beiden Gruppen außerordentliche Schwankungen sich ergaben, die lediglich einem leichten Trend folgten. Diese Individualverläufe zeigten auch keinerlei Korrelation zu den Alkoholspiegeln, da diese ohne Ausnahme in der ersten, eventuell noch in der zweiten Stunde anstiegen, um dann sehr langsam wieder abzufallen. Wir konnten also unter den von uns gewählten Bedingungen nicht bestätigen, daß bei der einmaligen Alkoholbelastung

in der Leber eine Lipidperoxidation ausgelöst wird, da für diesen Fall ein eindeutigerer Anstieg in der Kohlenwasserstoffausatmung in den Fällen der Placebogruppe zu erwarten gewesen wäre.

Noch konnten wir eine Hemmung der Lipidperoxidation und somit einen schützenden Effekt auf die Leber durch +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) feststellen, da zwischen Catergen- und Placebogruppe zwar ein Tendenzunterschied in den Verläufen zu registrieren war, dieser Unterschied aber in keinem Fall signifikant gewesen ist. Dies könnte verschiedenfach verursacht sein. Zum ersten ist denkbar, daß Lipidperoxidation bei einmaliger Alkoholverabreichung nur durch eine wesentlich höhere Dosis ausgelöst wird. Wie bereits ausgeführt, konnten wir aus bestimmten Gründen keine höhere Dosierung wählen.

Zum anderen scheint ein Wirkungsdefizit von +-Cyanidanol-3 denkbar, wie es DANNI und Mitarbeiter bereits 1977 vermutet haben (DANNI et al. 1977). Diese Autoren zeigten, daß +-Cyanidanol-3 nur in vitro, nicht aber in vivo einen Leberschutzeffekt gegen die durch Tetrachlorkohlenstoff induzierte Lipidperoxidation hat.

Sie führen dies unter anderem auf pharmakokinetische Eigenschaften des +-Cyanidanol-3 zurück. Dieses Flavonoid wird im Körper sehr schnell abgebaut und über die Galle ausgeschieden. Das Maximum der biliären Sekretion liegt bei intravenöser Gabe bei 1 - 2 Stunden. Sie vermuteten daher, daß +-Cyanidanol-3

a) zu schnell abgebaut und ausgeschieden wird und somit nicht lange genug ein ausreichender Wirkspiegel erzielt werden kann und

b) +-Cyanidanol-3 nicht fähig ist, an den intrazellulären Ort zu gelangen, wo die Aktivierung von in ihrem Falle Tetrachlorkohlenstoff, in unserem Falle von Alkohol, stattfindet.

Wir sind geneigt, uns dieser Erklärung von DANNI anzuschließen.

Unsere Ergebnisse lassen somit darauf schließen, daß es bei einmaliger Alkoholgabe in der von uns gewählten Dosierung zu keiner Anregung der Lipidperoxidation in der Leber kommt, und daß deshalb eine Medikation mit +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) auch keine Wirkung zeigen konnte.

6. ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde -unter der Voraussetzung, daß bei einmaliger Alkoholgabe in der Leber eine Peroxidation von ungesättigten Fettsäuren angeregt wird- untersucht, ob diese Lipidperoxidation durch einen Radikalfänger wie +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) verhindert werden kann.

Dies wurde in vivo an 24 Probanden untersucht, von denen 13 im Rahmen einer Doppelblindstudie +-Cyanidanol-3 (Catergen^{R}) erhielten, die restlichen 11 Probanden lediglich ein Placebo.

Lipidperoxidation wurde nachgewiesen durch die Bestimmung der Konzentration von Äthan, Propan, Pentan in der Ausatemluft der Probanden. Die erarbeitete Methode erwies sich dabei als zuverlässig.

Ein signifikanter Unterschied in der Ausatmung dieser Gase konnte zwischen der Catergengruppe und der Placebogruppe allerdings nicht gezeigt werden. Es ist daraus zu schließen, daß unter den von uns gewählten Bedingungen es bei einmaliger Alkoholgabe zu keiner Anregung der Peroxidation ungesättigter Fettsäuren in der Leber kommt, und daß deshalb eine Medikation mit +-Cyanidanol-3 keine Wirkung zeigen konnte.

7. LITERATURVERZEICHNIS

BAUER, R.
Pathophysiologie, Pathobiochemie. 1. Auflage
Berlin, New York: de Gruyter 1977

BIDLACK, W.R., TAPPEL, A.L.
Damage to microsomal membrane by Lipid Peroxidation.
Lipids 8 (4), 177 - 182 (April 1973)

BLUM, A.L., DOELLE, W., KORTÜM, K., PETER, P., STROHMEYER, G., BERTHET, P., GOEBELL, H., PELLONI, S., POULSEN, H., TYGSTRUP, N.
Behandlung der akuten Virushepatitis mit (+)-Cyanidanol-3.
Übersetzung aus: Lancet, 1153 - 1155 (1977)

CETTA, G., FOSSATTI, G., CASTELLANI, A.A.
In vivo and in vitro Evidence for the Action of (+)-Catechin and its Derivates on Connective Tissue.
aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases Int. Symp. Tirrenia 1974, 114 - 120, Basel: Karger 1975

COMPORTI, M., BENEDETTI, A., CHIELI, E.
Studies on in Vitro Peroxidation of Liver Lipids in Ethanol-Treated Rats.
Lipids 8 (4), 498 - 502 (1973)

DANNI, O., SAWYER, B.C., SLATER, T.F.
Effects of (+)-Catechin in vitro and in vivo on Disturbances Produced in Rat Liver Endoplasmic Reticulum by Carbon Tetrachloride (Proceedings).
Biochem. soc. trans. 5 (4), 1029 - 1032 (1977)

DILLARD, C., TAPPEL, A.L., DUMELIN, E.E.
Effect of Dietary Vit. E on Expiration of Pentane and Ethane by the Rat.
Lipids 12 (1), 109 - 114 (1977)

DI LUZIO, N.R.
Letter to the Editor: The Role of Lipid Peroxidation and Antioxidants in Ethanol-Induced Lipid Alterations.
Exp. Mol. Pathol. 8, 394 - 402 (1968)

DI LUZIO, N.R., COSTALES, F.
Inhibition of the Ethanol and Carbon Tetrachloride Induced Fatty Liver by Antioxidants.
Exp. Mol. Pathol. 4, 141 - 154 (1965)

DI LUZIO, N.R., HARTMAN, A.D.
The Effect of Ethanol and Carbon Tetrachloride Administration on Hepatic Lipid-Soluble Antioxidant Activity.
Exp. Mol. Pathol. 11, 38 - 52 (1969)

DUMELIN, E.E., TAPPEL, A.L.
Hydrocarbon Gases Produced during in Vitro Peroxidation of Polyunsaturated Fatty Acids and Decomposition of Preformed Hydroperoxids.
Lipids 12 (11), 894 - 900 (Nov. 1977)

FORSTER, B., ROPOHL, D.
Rechtsmedizin.
Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag 1976

GAJDOS, A., GAJDOS-TÖRÖK, M., HORN, R.
Effet préventif et curatif de la (+)-catéchine sur les pertubations biochimiques et histologiques du foie provoquées chez le rat par l'éthanol
aus: New Trend in the Therapy of Liver Diseases.
Int. Symp. Tirrenia 1974, 114 - 120
Basel: Karger 1975

GROSS, R., SCHÖLMERICH, P.
Lehrbuch der Inneren Medizin
5. Auflage Stuttgart-New York:
F.K. Schattauer Verlag 1977

HASHIMOTO, S., RECKNAGEL, R.O.
No Chemical Evidence of Hepatic Lipid Peroxidation in Acute Ethanol Toxicity.
Exp. Mol. Pathol. 8, 225 - 242 (1968)

HASUMARA, Y., TESCHKE, R., LIEBER, C.S.
Acetaldehyde oxidation by hepatic mitochondria. Decrease after chronic ethanol consumption.
Science 189, 727 (1975)

KAPPUS, H., KÖSTER-ALBRECHT, D., REMMER, H.
2-Hydroxyoestradiol and (+)-cyanidanol-3 prevent lipid peroxidation of isolated hepatocytes of rats.
pers.Mitt., Artikel in Vorbereitung

KOES, M., WARD, T., PENNINGTON, S.
Lipid Peroxidation in Chronic Ethanol Treated Rats: In Vitro Uncoupling of Peroxidation from Nicotine Adenosine Dinucleotide Phosphate Oxidation.
Lipids 9 (11), 899 - 904 (Mai 1974)

KOESTER, U., REMMER, H.
Ethane Production by Rats and Mice as a Parameter of Lipid Peroxidation in vivo Induced by Halogenated Hydrocarbons and by Ethanol.
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 898 R 15 (1977)

KOESTER, U., ALBRECHT, D., KAPPUS, H.
Evidence for Carbon Tetrachloride- and Ethanol-Induced Lipid Peroxidation in Vivo Demonstrated by Ethane Production in Mice and Rats.
Toxicol. appl. Pharmacol. 41 (3), 639 - 648 (1977)

LIEBER, C.S.
Effects of Ethanol upon Lipid Metabolism.
Lipids 9, 103 - 116 (Febr. 1974)

LIEBERMAN, M., HOCHSTEIN, P.
Ethylene Formation in Liver Microsomes.
Science 125, 213 - 214 (April 1966)

LITOV, R.E., IRVING, D.H., DOWNEY, J.E., TAPPEL, A.L.

Lipid Peroxidation: a Mechanism Involved in Acute Ethanol Toxicity as Demonstrated by In-Vivo Pentane Production in the Rat.

Lipids 13 (4), 305 - 307 (1978)

LITOV, R.E., DILLARD, C.E., DOWNEY, J.E., IRVING, D.H., SAGAI, M., GEE, D., TAPPEL, A.L.

Measurement of in-vivo Lipid peroxidation via pentane effect of Vit. E selenium and polyunsaturated fats and assay for acute toxic reactions.

Fed. Proc. 37 (3), 706 (1978)

LÜHRS, D.

Mündliche Mitteilung, Dissertation in Vorbereitung

NIEBES, P., PONARD, G.

Stabilisation of Rat-Liver Lysosomes by (+)-Cyanidanol-3 in vivo aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases.

Int. Symp. Tirrenia 1974, 128 - 139 Basel: Karger 1975

PLAA, G., WITSCHI, H.

Chemicals, Drugs and Lipid Peroxidation.

Anual. Revue Pharmacol. Toxicol. 16, 125 - 141 (1976)

REID, A.M.B., SLATER, T.F.

Some Effects of Ethanol in vivo and in vitro on Lipid Peroxidation (Proceedings).

Biochem. soc. trans. 5 (5), 1292 - 1294 (1977)

REHMANN, I., HEINKEL, K.

Einfluß von (+)-Cyanidanol-3 auf den Verlauf der akuten Hepatitis.

Wochenschrift für Klinik und Praxis 72, 2159 - 2164 (1977)

REMMER, H., ALBRECHT, D., KAPPUS, H.

Lipid Peroxidation in Isolated Hepatocytes from Rats Ingesting Ethanol Chronically.

Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 298 (2), 107 - 113 (1977)

RIELY, C.,
COHEN, G.,
LIEBERMAN, M.

Ethane Evolution: A New Index of Lipid Peroxidation.

Science 183, 208 - 210 (1974)

SCHNEIDER, G.

Mündliche Mitteilung, Dissertation in Vorbereitung

SLATER, T.F.

Free Radical Mechanisms in Tissue Injury.

London: Pion Limited 1972, 29 - 33

SLATER, T.F.

The Role of Lipid Peroxidation in Liver Injury.
aus: Pathogenesis and mechanisms of liver cell necrosis.

Chapter 19, 209 - 223
Freiburg/Brsg. 1975

SLATER, T.F.,
EAKINS, M.N.

Interactions of (+)-Cyanidanol-3 with Free Radical Generating Systems
aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases.

Int. Symp. Tirrenia 1974, 84 - 89
Basel: Karger 1975

TAPPEL, A.L.,
HEATH, R.L.

A new sensitive Assay for the Measurement of Hydroperoxids.

Anal. Biochem. 76 (L), 184 - 191 (Nov. 1976)

TAPPEL, A.L.

Lipid Peroxidation Damage to Cell Components.

Fed. Proc. 32 (8), 1870 - 1874 (Aug. 1973)

TONGIANI, R.,
MALVALDI, G.,
BERTELLI, A.

Class-Organisation of the Hepatocytes Protection by (+)-Cyanidanol-3 against Acute Poisoning.
aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases

Int. Symp. Tirrenia 1974 , 100 - 109
Basel: Karger 1975

TONGIANI, R.,
MALVALDI, G.,
CHIELI, E.

Class-Organisation of the Hepatocytes Early Changes following Acute Intoxication by Drugs and Poisons.
aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases.

Int. Symp. Tirrenia 1974, 27 - 37
Basel: Karger 1975

WOLFERT, W.,
GOEBELL, H.

The Effect of (+)-Catechin on the Alterations of Coenzym A, Carnitine and their Fatty Acid Esters Induced by Acute Ethanol Application in the Rat Liver.
aus: New Trends in the Therapy of Liver Diseases.

Int. Symp. Tirrenia 1974, 164 - 168
Basel: Karger 1975

DANKSAGUNG

Ich möchte mich an dieser Stelle herzlich bedanken bei Herrn Professor Dr. Hempel für die freundliche Überlassung des Themas und seine unermütliche und tatkräftige Mitwirkung bei der Ausführung der Versuche.

Ebenso möchte ich mich bedanken bei Herrn Dr. G. Hennings von der Firma Zyma GmbH, München, für seine freundliche und umsichtige Planung und Finanzierung.

Besonderen Dank schulde ich aber Frau M. Kommerell und Herrn Dr. R. May, die mir bei Vorbereitung und Durchführung der Versuche zur Seite gestanden haben und für alle fachlichen und auch weniger fachlichen Probleme stets ein offenes Ohr hatten.

Dankbar bin ich fernerhin allen Probanden, die sich freiwillig zur Verfügung gestellt haben, sowie allen Kommilitonen und Freunden, deren Aufmunterungen und Ratschläge mir stets hilfreich waren.

LEBENSLAUF

Am 18.12.1955 wurde ich, Susanne Kappler, als Tochter des Holzkaufmanns Otto Kappler und der Liselotte, geb. Habisreitinger in Freudenstadt geboren. In Igelsberg, Kreis Freudenstadt, dem Wohnort meiner Eltern, wuchs ich zusammen mit meinem Bruder auf und besuchte hier von 1962 - 1966 die Grundschule.

Die weitere Schulausbildung erfolgte von 1966 - 1971 an der Realschule in Freudenstadt und anschließend am Wirtschaftsgymnasium, Eduard-Spranger-Schule, in Freudenstadt, wo ich 1974 die Reifeprüfung ablegte.

Im Sommer 1975 begann ich dann mit dem Studium der Medizin an der Eberhard-Karls-Universität in Tübingen. Nach der zweiten Ärztlichen Prüfung kam ich ins Praktische Jahr an die Städtischen Krankenanstalten nach Esslingen.

Am 22. Okt. 1981 konnte ich hier erfolgreich mein Staatsexamen ablegen.